

## اثر مکمل یاری آب انار بر استرس اکسیداتیو در مردان جوان

علی شادمان فرد<sup>۱</sup>، علی نعمتی<sup>۲</sup>، عباس نقی زاده باقی<sup>۲</sup>، محمد مآذنی<sup>۲\*</sup>

<sup>۱</sup> کارشناس ارشد بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران

<sup>۲</sup> گروه علوم پایه، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران

\*نویسنده مسئول. تلفن: ۰۴۵۱۵۵۱۰۰۵۲ فاکس: ۰۴۵۱۵۵۱۰۰۵۷ E-mail: m.mazani@arums.ac.ir

### چکیده

**زمینه و هدف:** مصرف مکمل های آنتی اکسیدانی در جلوگیری از استرس اکسیداتیو در افراد سالم می تواند نقش کلیدی داشته باشد. با توجه به اثرات آنتی اکسیدانی انار در سلامتی مردان جوان و نقش احتمالی این اثرات از طریق کاهش استرس اکسیداتیو، مطالعه حاضر با اثر مکمل یاری آب انار بر استرس اکسیداتیو در مردان جوان انجام گردید.

**روش کار:** در یک مطالعه نیمه تجربی ۱۴ نفر از دانشجویان سالم ساکن خوابگاه های دانشگاه علوم پزشکی اردبیل با مصرف روزی یک لیوان مکمل آب انار به مدت دو هفته مورد مداخله قرار گرفتند. در ابتدا و در انتهای مطالعه از افراد نمونه های خونی ناشتا جهت سنجش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز، پاراکسوناز ۱، آریل استراز و مقادیر ظرفیت آنتی اکسیدانی تام، گلوتاتیون و پروفیل های لیپیدی گرفته شد و نتایج با استفاده از آزمون های آماری توصیفی و تی زوجی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

**یافته ها:** بدنبال مصرف دو هفته ای مکمل آب انار ظرفیت آنتی اکسیدانی تام، سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز، آریل استراز و فعالیت استاندارد شده آریل استراز سرم افزایش معنی دار و سطح مالون دی آلدئید سرم کاهش معنی داری داشت ( $p < 0.05$ ). با اینکه سطح سرمی گلوتاتیون و HDL-کلسترول افزایش و LDL-کلسترول کاهش یافت، ولی تغییرات آنها معنی دار نبود.

**نتیجه گیری:** یافته های این مطالعه نشانگر اثرات سودمند مکمل آب انار در تقویت سیستم دفاع آنتی اکسیدانی بدن و کاهش استرس اکسیداتیو در مردان سالم جوان می باشد. مطالعه حاضر ارزشمند بودن این مکمل را در رژیم غذایی مردان سالم برای مقابله با استرس اکسیداتیو پیشنهاد می کند.

**کلمات کلیدی:** آب انار؛ استرس اکسیداتیو؛ آنزیم های آنتی اکسیدانی؛ مردان جوان

پذیرش: ۹۱/۲/۲۵

دریافت: ۹۰/۱۲/۲۰

### مقدمه

تا مولکول های زیستی مانند اسیدهای نوکلئیک، پروتئین ها و چربی ها اکسید شده و اطلاعات ژنتیکی و ماهیت طبیعی پروتئین ها تغییر نموده و آنزیم ها غیر فعال و غشاهای زیستی دچار اختلال شوند. در اثر استرس اکسیداتیو تعادل آنتی اکسیدانی بدن بهم

استرس اکسیداتیو در نتیجه عدم تعادل بین تولید رادیکال های آزاد و گونه های فعال اکسیژن از یک سو و سیستم دفاع آنتی اکسیدانی بدن از سوی دیگر ایجاد می شود [۱]. استرس اکسیداتیو موجب می شود

\* این مقاله با کد شناسایی IRCT201012255144N2 در مرکز ثبت کارآزمایی های بالینی ایران ثبت گردیده است.

این مقاله حاصل پایان نامه دانشجویی کارشناسی ارشد رشته بیوشیمی بالینی به شماره ۰۳ دانشگاه علوم پزشکی اردبیل می باشد.

لطفاً به این مقاله به شکل زیر ارجاع دهید:

Shadmanfard A, Nemati A, Naghizadeh Baghi A, Mazani M. The Effect of Pomegranate Juice Supplementation on Oxidative Stress in Young Healthy Males. J Ardabil Univ Med Sci. 2013; 12 (5 Suppl.1): 77-86. (Full Text in Persian)

سودمند انار در سلامتی مردان جوان از طریق کاهش استرس اکسیداتیو و مفید بودن آن در جلوگیری از ابتلا به بیماریها از جمله بیماری قلبی و عروقی که شایعترین علت مرگ و میر افراد بالغ در ایران می باشد [۲۱،۲۲]. مطالعه حاضر با اثر مکمل یاری آب انار بر استرس اکسیداتیو در مردان جوان انجام گردید.

### روش کار

پژوهش حاضر به صورت مداخله ای در دانشگاه علوم پزشکی اردبیل در سالهای ۹۰-۱۳۸۹ انجام شد. این تحقیق از نظر رعایت اصول اخلاقی مورد تایید کمیته اخلاق معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اردبیل قرار گرفت. جمعیت هدف دانشجویان مذکر ساکن خوابگاه های دانشگاه علوم پزشکی اردبیل در محدوده سنی ۲۴-۱۸ سال بودند. پس از دریافت رضایت نامه آگاهانه، ۱۴ نفر افراد سالم دانشجویان برای مطالعه انتخاب شدند. آنهایی که بیماری خاصی داشته، دارای اضافه وزن بوده و سیگار و الکل مصرف می کردند از مطالعه خارج شدند. در این تحقیق با استفاده از یک پرسشنامه عمومی اطلاعات مربوط به سن تقویمی، سابقه عمل جراحی و بیماری های مزمن از جمله بیماریهای متابولیک و قلبی و عروقی، سابقه مصرف دارو و مصرف دخانیات و موارد دیگر جمع آوری و همچنین با استفاده از پرسشنامه یادآمد خوراک ۲۴ ساعته سه روز در هفته اطلاعات مربوط به دریافت مواد غذایی از آزمودنی ها قبل از شروع مطالعه و انتهای مطالعه اخذ و ثبت گردید. پس از ثبت اطلاعات غذایی از نرم افزار تغذیه ای Food Processor III جهت تجزیه و آنالیز غذایی استفاده گردید. اندازه گیری قد و وزن در حالت ایستاده با حداقل لباس و بدون کفش با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۱ کیلوگرم و قد سنج دیواری با دقت ۰/۱ سانتی متر اندازه گیری شدند. نمایه توده

خورده و در نتیجه بیماریهایی مانند مسمومیت و پیری بروز می کنند [۴-۲]. گزارش شده است که آنتی اکسیدانها می تواند نقش مهمی در حالت سلامت و بیماریها داشته باشد [۵]. نتایج مطالعات متعدد حاکی از آن است که مصرف مکمل های آنتی اکسیدانی می تواند در جلوگیری از استرس اکسیداتیو نقش کلیدی داشته باشد [۹-۶]. یکی از مواد آنتی اکسیدانی مطرح در این زمینه میوه انار بوده که درخت آن بومی ایران است [۱۰]. با توجه به خصوصیات غذایی و دارویی که انار دارد می تواند در رژیم غذایی افراد از اهمیت خاصی برخوردار باشد. انار محتوی انواع قندها، اسیدهای آلی، الکاوئیدها، پلی فنلها، فلاونوئیدها، آنتوسیانینها و ویتامینها است [۱۴-۱۱]. نتایج مطالعه ای نشان می دهد که قدرت و میزان آنتی اکسیدانی انار قویتر از سایر آب میوه جات می باشد [۱۵] و می تواند در پیشگیری از انواع سرطانها، دیابت نوع ۲ [۱۰]، و بیماریهای قلبی و عروقی نقش داشته باشد [۱۶،۱۰]. در کشورهای در حال توسعه نوجوانان و جوانان حدود ۸۰٪ جمعیت را تشکیل می دهند. بدلیل آسیب پذیری این گروه سنی، بر سلامت روحی و روانی آنها تاکید شده است [۱۷]. در مدل های حیوانی اختلافات جنسی در تولید استرس اکسیداتیو نشان داده شده است [۱۸]. نظر بر این است که استرس اکسیداتیو در مردان بیشتر از زنان باشد و افزایش استرس در مردان احتمالاً خطر بروز بیماریها مانند بیماریهای قلبی و عروقی را افزایش می دهد [۱۹]. نشان داده شده است که تنفس سلولی در افراد سالم مهمترین منبع گونه های فعال شده اکسیژن بوده و باعث افزایش متابولیسم پایه در مردان در مقایسه با زنان می شود [۲۰]، که ممکن است نقشی در استرس اکسیداتیو بیشتر در مردان داشته باشد [۱۹]. از طرف دیگر مطالعات متعدد اثر مفید بودن مصرف مکمل آب انار در پیشگیری از استرس اکسیداتیو نشان داده اند [۱۶،۱۰]. با توجه به احتمال اثرات

بدنی<sup>۱</sup> با استفاده از فرمول نسبت وزن (کیلوگرم) به مجذور قد (متر) برآورد شد. در این تحقیق برای به دست آوردن روایی پرسشنامه از روش روایی محتوایی<sup>۲</sup> استفاده گردید. بدین منظور پرسشنامه نهایی در اختیار اساتید و متخصصان فن قرار داده شد و از آنها خواسته شد که آیا سوال های مورد نظر می تواند متغیرهای مورد نظر را بسنجد؟ که مورد تأیید اساتید قرار گرفت. جهت تعیین اعتماد علمی ابزار از روش آزمون مجدد استفاده گردید. جهت اجرای کار در ابتدا نمونه خونی ناشتا از آزمودنی ها اخذ گردید. سپس به هر یک از آنها روزانه در ساعت معین یک لیوان کامل (۲۴۰ سی سی) مکمل آب انار تازه تهیه شده به مدت دو هفته داده شد. پس از دو هفته مجدداً خونگیری بعمل آمد. از نمونه های خونی جهت اندازه گیری آنزیم های آنتی اکسیدانی سرم سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، گلووتاتیون پراکسیداز، پاراکسوناز ۱ (۱-PON)، آریل استراز (ARE)، ظرفیت آنتی اکسیدانی تام، گلووتاتیون و سطح مالون دی آلدئید (مواد واکنش دهنده با اسید تیوباربیتریک) سرم استفاده گردید. جهت اندازه گیری سوپراکسید دیسموتاز و گلووتاتیون پراکسیداز از لوله های هپارینه استفاده گردید و پس از آماده سازی آنها مطابق دستورالعمل کیت ها در ۸۰- درجه سانتی گراد تا انجام آزمایش نگهداری شدند. مقادیر ظرفیت آنتی اکسیدانی تام سرم با اندازه گیری جذب در  $\lambda = 600nm$  به طور اسپکتروفتومتری و با استفاده از کیت Randox تعیین شد. اندازه گیری فعالیت سوپراکسید دیسموتاز گلوبولهای قرمز با استفاده از روش اسپکتروفتومتری (کیت Ransod شرکت Randox) انجام شد. اندازه گیری گلووتاتیون تام سرم با استفاده از کیت Cayman Chemical Glutathione Assay Kit به روش الیزا انجام گردید. اندازه گیری فعالیت

آنزیم گلووتاتیون پراکسیداز با استفاده از کیت Ransel شرکت Randox و بر اساس روش Paglia & Valentine انجام شد. اساس این روش شامل اکسیداسیون گلووتاتیون توسط آنزیم گلووتاتیون پراکسیداز و در مرحله بعدی احیای گلووتاتیون اکسید شده توسط آنزیم گلووتاتیون ردوکتاز و اندازه گیری جذب نوری در طول موج ۳۴۰ نانومتر می باشد.

فعالیت آنزیم ۱-PON (در حضور و غیاب نمک) در برابر پاراکسون بر اساس روش فورلانگ [۲۳] با تغییرات اندکی در غیاب و یا حضور  $NaCl$  ۲/۶۳ مولار انجام گرفت. جهت اندازه گیری فعالیت پایه آنزیم بر روی ۷۶۰ میکرولیتر بافر آزمایش [حاوی ۱/۳۲/۰ مولار تریس - HCL (pH ۸/۵)، ۱/۳۲ میلی مولار کلرید کلسیم] ۴۰ میکرولیتر پاراکسون (شرکت سیگما کمیکال) تازه تهیه شده ۶ میلی مولار افزوده شد و میزان پارانیتر و فنل آزاد شده در ۳۷ درجه سانتی گراد با استفاده از اندازه گیری جذب در طول موج ۴۰۵ نانومتر تعیین گردید. فعالیت ۱-PON با استفاده از ضریب جذب مولی  $cm^{-1} M^{-1}$  ۱۸۰۵۰ محاسبه گردید و بصورت IU/L بیان شد. IU تعداد میکرومولهای پاراکسون است که در هر دقیقه هیدرولیز می شوند. جهت اندازه گیری فعالیت تحریک شده با  $NaCl$  آنزیم، به بافر آزمایش فوق  $NaCl$  ۲/۶۳ مولار افزوده گردید و سپس فعالیت ۱-PON سنجش شد. فعالیت آریل استراز آنزیم با استفاده از سوبسترای فنیل استات برطبق دستورالعمل بروفی انجام شد [۲۴]. در این سنجش ۱۰ میکرولیتر از سرم انسانی رقیق شده به نسبت ۱:۴۰ با ۲۰۰ میکرولیتر از محلول سوبسترا (فنیل استات) ۳/۲۶ میلی مولار در تریس - HCL ۹ میلی مولار با pH=۸ و کلرید کلسیم ۰/۹ میلی مولار مخلوط می شد و میزان هیدرولیز فنیل استات از طریق اندازه گیری جذب نوری در ۲۷۰ نانومتر و در ۲۵ درجه سانتی گراد تعیین گردید. غلظت فنل حاصل شده با استفاده از ضریب جذب مولی  $M^{-1}cm^{-1}$

<sup>۱</sup> Body Mass Index<sup>۲</sup> Content Validity

<sup>۱</sup> ۱۳۱۰ محاسبه شد. هر واحد از فعالیت آریل استرازی به معنی یک میلی مول از فنل آزاد شده به ازای یک لیتر سرم در هر دقیقه است (mmol/L/min). فعالیت استاندارد شده آنزیمهای PON/HDL و ARE به ترتیب با نسبتهای ARE/HDL تعیین شده است. سطح سرمی مالون دی آلدئید (MDA) به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی بر اساس مواد واکنش دهنده با اسید تیوباریتوریک تعیین گردید. برای این امر ۱۰۰ میکرولیتر سرم با ۶۰۰ میکرولیتر اسید فسفریک ۱٪ مخلوط شده پس از بهم زدن، ۲۰۰ میکرولیتر اسید تیوباریتوریک ۰/۶٪ اضافه شد لوله حاوی محلول حاصل به مدت ۴۵ دقیقه در آب در حال جوش قرار داده شد پس از سرد کردن ۴۰۰ میکرولیتر n - بوتانل اضافه گردید بعد از سانتیفریژ به مدت ۱۰ دقیقه فاز رویی صورتی رنگ جدا و جذب آن در ۵۳۲ نانومتر اندازه گیری شده و مقدار MDA نمونه از روی منحنی استاندارد حاصل از تتراتوکسی

پروپان به دست آمد. با استفاده از نرم افزار آماری SPSS-16 و از آزمون های آماری توصیفی و تی زوجی برای آنالیز داده ها استفاده گردید. سطح معنی دار آماری برای کلیه آزمونها  $p < 0.05$  در نظر گرفته شد. کلیه اطلاعات بصورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار ارائه گردیدند.

### یافته ها

نتایج میانگین سن، قد، وزن و نمایه توده بدنی افراد شرکت کننده در مطالعه در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱. میانگین سن، قد، وزن و نمایه توده بدنی افراد شرکت کننده			
متغیر	میانگین	انحراف معیار	
سن (سال)	۱۹/۱	۱/۳۶	
قد (سانتی متر)	۱۷۷	۵/۵	
وزن (کیلوگرم)	۷۰/۴	۸/۶	
نمایه توده بدنی (کیلوگرم بر متر مربع)	۲۲/۷	۲/۴	

جدول ۲. مقایسه مواد مغذی دریافتی پیش و پس از آزمون در افراد مورد مطالعه

متغیر	هفته قبل از شروع مطالعه	هفته دوم پس از مطالعه	سطح معنی داری	متغیر	هفته قبل از شروع مطالعه	هفته دوم پس از مطالعه	سطح معنی داری
کالری (Kcal)	۲۴۱۱ $\pm$ ۱۷۶	۲۳۵۰ $\pm$ ۳۷۸	۰/۲*	ویتامین B <sub>3</sub> (mg)	۲۳/۷ $\pm$ ۸/۵	۲۳/۵ $\pm$ ۳/۶	۰/۹۳*
پروتئین (g)	۹۴ $\pm$ ۱۲	۹۵ $\pm$ ۱۳	۰/۹۸*	ویتامین B <sub>5</sub> (mg)	۳/۵ $\pm$ ۰/۸۲	۳/۱ $\pm$ ۰/۷۴	۰/۲۸*
چربی (g)	۸۷ $\pm$ ۱۳	۸۸ $\pm$ ۱۵	۰/۴۳*	ویتامین B <sub>6</sub> (mg)	۱/۴ $\pm$ ۰/۵	۱/۱ $\pm$ ۰/۳	۰/۳*
کربوهیدرات (g)	۳۲۳ $\pm$ ۲۹	۳۴۸ $\pm$ ۶۹	۰/۲۱*	ویتامین B <sub>12</sub> (μg)	۲/۸ $\pm$ ۰/۹۶	۳ $\pm$ ۱	۰/۱*
فیبر (g)	۱۳ $\pm$ ۵	۱۲ $\pm$ ۳	۰/۷۹*	ویتامین C (mg)	۵۴ $\pm$ ۳۸	۵۵ $\pm$ ۲۶	۰/۹۶*
ویتامین A (توتال μg)	۸۸۷ $\pm$ ۲۲۴	۸۵۸ $\pm$ ۲۷۸	۰/۱*	آهن (mg)	۱۹/۸ $\pm$ ۵/۲	۲۴ $\pm$ ۷	۰/۱*
ویتامین E (mg)	۱۳/۴ $\pm$ ۳	۱۵ $\pm$ ۳	۰/۱۷*	سلنیوم (μg)	۴۳/۶ $\pm$ ۸/۴	۴۲ $\pm$ ۱۰	۰/۶۱*
ویتامین B1 (mg)	۱/۴۹ $\pm$ ۰/۲۲	۱/۵۵ $\pm$ ۰/۳۷	۰/۶۶*	روی (mg)	۴/۷ $\pm$ ۱	۴/۱ $\pm$ ۱/۲	۰/۲*
ویتامین B2 (mg)	۱/۳۳ $\pm$ ۰/۲۹	۱/۳۸ $\pm$ ۰/۳۴	۰/۶۹*	منیزیم (mg)	۱۶۰ $\pm$ ۵۹	۱۴۶ $\pm$ ۳۷	۰/۴۲*
اسیدفولیک (μg)	۱۲۰ $\pm$ ۷۳	۱۱۷ $\pm$ ۴۹	۰/۹۱*				۰

\* با توجه به آزمون تی زوجی ( $p > 0.05$ ) اختلاف متغیرها در پیش و پس از آزمون معنی دار نیست.

با استفاده از آزمون تی همبسته هیچ اختلاف معنی داری مابین دریافت مواد مغذی قبل از مطالعه و هفته دوم بعد از مطالعه مشاهده نگردید (جدول ۲).

بدنبال مصرف یک لیوان آب انار افزایش معنی داری در ظرفیت آنتی اکسیدانی تام، سوپراکسیداتیو دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز، آریل استراز و فعالیت استاندارد شده آریل استراز مشاهده گردید

هفته مداخله با مکمل آب انار کاهش معنی داری را نشان داد ( $p < 0.05$ ). با اینکه سطح سرمی کلسترول تام، تری گلیسرید و کلسترول LDL بدنال مصرف مکمل آب انار کاهش یافتند ولی این کاهش از نظر آماری معنی دار نبود (جدول ۳).

( $p < 0.05$ ). با اینکه سطح سرمی گلوکاتیون، پاراکسوناز در حضور و در غیاب نمک، HDL / پاراکسوناز و کلسترول HDL بدنال مصرف مکمل آب انار افزایش یافتند ولی این تغییرات از نظر آماری معنی دار نبود. سطح سرمی MDA بعد از دو

جدول ۳. نتایج آزمون تی زوجی برای مقایسه میانگین متغیرها متعاقب مصرف آب انار

متغیرها	پیش آزمون	پس آزمون	معنی داری
مالون دی آلدئید (nmol/ml)	$0.1993 \pm 0.04$	$0.1671 \pm 0.03$	$0.0026^*$
ظرفیت آنتی اکسیدانی تام (mmol/L)	$0.7564 \pm 0.14$	$0.8686 \pm 0.12$	$0.0021^*$
سوپراکسید دیسموتاز (U/gHb)	$1556/14 \pm 169/36$	$1720/14 \pm 136/52$	$0.007^*$
گلوکاتیون پراکسیداز (U/gHb)	$42/21 \pm 2/77$	$45/46 \pm 2/01$	$0.004^*$
گلوکاتیون (mmol/L)	$0.2093 \pm 0.04$	$0.2479 \pm 0.08$	$0.110$
پاراکسوناز در حضور نمک (U/L)	$245/73 \pm 91/10$	$266/51 \pm 76/99$	$0.248$
پاراکسوناز در غیاب نمک (U/L)	$52/98 \pm 23/22$	$65/25 \pm 17/01$	$0.052$
آریل استراز (U/L)	$129/36 \pm 36/93$	$186/61 \pm 47/61$	$0.001^*$
HDL / آریل استراز (U/L)	$2/66 \pm 0.82$	$3/43 \pm 1.01$	$0.013^*$
HDL / پاراکسوناز در حضور نمک (U/L)	$5/02 \pm 1.83$	$4/87 \pm 1.46$	$0.686$
HDL / پاراکسوناز در غیاب نمک (U/L)	$1/08 \pm 0.42$	$1/21 \pm 0.37$	$0.338$
کلسترول تام (mg/dl)	$139/86 \pm 25/13$	$130/07 \pm 16/98$	$0.228$
کلسترول LDL (mg/dl)	$69/83 \pm 12/99$	$65/66 \pm 9/68$	$0.099$
کلسترول HDL (mg/dl)	$49/32 \pm 6/91$	$55/05 \pm 6/02$	$0.058$

\* با توجه به آزمون تی زوجی ( $p < 0.05$ ) اختلاف متغیرها در پیش و پس آزمون معنی دار است.

## بحث

گزارش شده است که استرس اکسیداتیو در مردان بیشتر از زنان است و افزایش استرس در مردان احتمالاً خطر بیماری آترواسکلروز را افزایش می‌دهد [۱۹]. استرس اکسیداتیو بدلیل افزایش تولید گونه‌های فعال شده اکسیژن و یا کاهش فعالیت آنتی اکسیدانها می‌باشد [۲۰]، که احتمال خطر بیماریهای قلبی و عروقی را افزایش می‌دهد [۱۹]. در مردان خطر بروز بیماریهای قلبی و عروقی بیشتر است و نتایج برخی از مطالعات حاکی از آن است که مواد آنتی اکسیدانی می‌تواند باعث مهار استرس اکسیداتیو [۲۵] و کاهش ابتلا به بیماریهای قلبی و عروقی گردد [۱۰، ۱۶]. یکی از غذاهای غنی از آنتی اکسیدان، انار است [۲۶-۲۸]. بطوری که فعالیت آنتی

اکسیدانی آن بیشتر از سایر آب میوه جات است [۱۵، ۲۹] و می‌تواند در بهبود سلامتی افراد سالم و پیشگیری و بهبود بیماری‌ها از جمله قلبی و عروقی موثر واقع شود [۳۰]. همسو با نتایج مطالعه حاضر مطالعات متعدد نشان می‌دهند که اثرات آنتی پراکسیداتیو انار از طریق کاهش مالون دی آلدئید، هیدروپراکسیدها و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی مانند سوپراکسید دیسموتاز، گلوکاتیون پراکسیداز و گلوکاتیون ردکتاز می‌باشد [۳۱، ۳۲]. همچنین مطالعه رزنبرگ<sup>۱</sup> و همکاران نشان دادند که پلی فنل‌های انار در حیوانات آزمایشگاهی می‌تواند باعث کاهش گونه‌های فعال شده اکسیژن و نیتروژن شود. این گونه‌های فعال باعث پراکسیداسیون

<sup>1</sup> Rozenberg

لیپیدها و تغییر LDL- کسترول شده و نقش کلیدی در تشکیل و پیشرفت ضایعات آتروم دارد [۳۳]. همچنین رزینلات<sup>۱</sup> و همکاران گزارش دادند که مصرف آب انار باعث کاهش ۴۲٪ پراکسیداسیون لیپیدی موشها شده و سطح گلوکاتینون کاهش یافته را ۵۳ درصد افزایش می‌دهد [۳۴]. مطالعات محدودی در انسان نشان می‌دهند که انار خاصیت ضد آترواسکلروسیک، ضد التهابی، ضد فشارخون و آنتی اکسیدانی دارد [۳۵]. مطالعه فضلی و همکاران در سال ۱۳۸۷ نشان داد که مصرف ۱۰۰ میلی لیتر آب انار به مدت دو هفته در دختران ۱۷ - ۱۵ ساله باعث افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی تام سرم می‌شود [۳۶]. مطالعه آویرام<sup>۲</sup> و همکاران در سال ۲۰۰۰ روی افراد سالم نشان داد که مصرف آب انار باعث افزایش فعالیت آنزیم پاراکسوناز به میزان ۲۰ درصد و کاهش اکسیداسیون LDL به میزان ۹۰ درصد می‌شود [۳۷]. مطالعه مرتنز-تالکوت<sup>۳</sup> و همکاران در سال ۲۰۰۶ نشان داد که با مصرف پلی فنل های انار توسط افراد سالم ظرفیت آنتی اکسیدانی سرم افزایش یافت، در صورتی که تولید گونه های فعال اکسیژن تحت تاثیر قرار نگرفت [۳۸]. افزایش آنتی اکسیدانی سرم در مطالعه مرتنز- تالکوت و همکاران بدنبال مصرف پلی فنل های انار با مطالعه اخیر همسو می‌باشد، در صورتی که در مطالعه آنها تولید گونه‌های فعال اکسیژن تحت تاثیر قرار نگرفت و این درحالی است که در مطالعه اخیر میزان استرس اکسیداتیو بدنبال مصرف انار کاهش یافت، علت مغایرت نتایج مرتنز- تالکوت با مطالعه اخیر ممکن است بخاطر طول مدت مطالعه باشد. نتایج حاضر نشان داد که بدنبال آب انار مصرفی به مدت دو هفته سطح ظرفیت آنتی اکسیدانی تام، سوپراکسید دیسموتاز، گلوکاتینون پراکسیداز، آریل استراز و

فعالیت استاندارد شده آریل استراز سرم افزایش معنی داری را نشان داد اما با اینکه سطح سرمی گلوکاتینون، پاراکسوناز در حضور و درغیاب نمک، HDL / آریل استراز و کسترول HDL بدنبال مصرف مکمل آب انار افزایش یافتند ولی این تغییرات از نظر آماری معنی دار نبود. همچنین سطح مالون دی آلدئید سرم بعنوان یک عامل پراکسید لیپیدی بدنبال مصرف مکمل آب انار کاهش معنی داری را نشان داد، که نشان دهنده اثر مثبت مکمل آب انار روی استرسهای اکسیداتیو می‌باشد. همچنانکه اشاره گردید آب انار دارای خاصیت آنتی اکسیدانی بالا و سرشار از ترکیبات فنلی است، بطوری که مصرف آن باعث افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی خون شده است. بطوری که نتایج مطالعه گارسیا-آلانزو<sup>۴</sup> بیانگر آن است که مصرف کوتاه مدت آب میوه های غنی از ترکیبات فنلی می‌تواند باعث بهبود وضعیت آنتی اکسیدانی بدن شود [۳۹]. از طرف دیگر در مطالعه باب<sup>۵</sup> و همکاران نشان داده شد که مصرف آب میوه‌های حاوی ترکیبات فنلی، صدمات اکسیداتیو به DNA را کاهش داده و عملکرد سیستم ایمنی را بهبود می بخشد [۴۰]. در مطالعه حاضر احتمالاً تقویت سیستم دفاع آنتی اکسیدانی از جمله آنزیمهای آنتی اکسیدانی توانسته با کاهش و خنثی سازی رادیکال های آزاد از عملکرد آنها بر لیپیدها جلوگیری کرده و پراکسیداسیون لیپیدی و همچنین سطح خونی مالون دی آلدئید را کاهش دهد. با توجه به این که سیستم دفاع آنتی اکسیدانی بدن از مخلوطی از آنتی اکسیدانها تشکیل شده که برخی از آنها از طریق رژیم غذایی تامین می‌شود، به نظر می رسد آنتی اکسیدانهای موجود در غذا از طریق قطع واکنش های زنجیره ای که منجر به تولید رادیکال های آزاد می‌شوند و یا اتصال به عنصر مس و جلوگیری از اتصال این عنصر به لیپوپروتئین باعث

<sup>1</sup> Rosenblat<sup>2</sup> Aviram<sup>3</sup> Mertens-Talcott<sup>4</sup> Garcia-Alonso<sup>5</sup> Bub

تاخیر در شروع فرایند پراکسیداسیون لیپیدهای پلاسما می‌گردد [۱۵]. از آنجایی که در این طرح سایر عوامل آنتی اکسیدانی و اکسیدانی مثل ویتامین‌های آنتی اکسیدانی، کاتالاز و ایزوپروپیل‌کاتالاز مورد ارزیابی قرار نگرفتند، بنابراین با در نظر گرفتن این محدودیت، بایستی در تعمیم نتایج محتاط بود.

### نتیجه گیری

طبق یافته های تحقیق می‌توان اظهار داشت که آب میوه انار توانائی زیادی در مهار رادیکال آزاد و مختلف را دارد و می‌تواند اثرات سودمندی در

سیستم دفاع آنتی اکسیدانی بدن و کاهش استرس اکسیداتیو در مردان سالم جوان داشته باشد. زیرا باعث کاهش معنی دار سطح سرمی مالون دی آلدئید (از شاخص های فشار اکسایشی) و بهبود دفاع آنتی اکسیدانی بدن از طریق افزایش سطح سرمی برخی از آنزیمهای آنتی اکسیدانی سرم می‌شود. با توجه به افزایش میزان ظرفیت آنتی اکسیدانی تام و برخی از آنزیمهای آنتی اکسیدانی بعد از مصرف آب انار، مطالعه حاضر ارزشمند بودن این مکمل غذایی در رژیم غذایی مردان سالم برای مقابله با استرس اکسیداتیو را پیشنهاد می‌کند.

### References

- 1- Madan K, Bhardwaj P, Thareja S, Gupta SD, Saraya A. Oxidant stress and antioxidant status among patients with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). *J Clin Gastroenterol*. 2006 Nov-Dec; 40(10):930-5.
- 2- Adams AK, Best TM. The role of antioxidants in exercise and disease prevention. *Phys Sportsmed*. 2002 May; 30(5):37-44.
- 3- Polidori M, Mecocci P, Cherubini A, Senin U. Physical activity and oxidative stress during aging. *Int J Sports Med*. 2000 Apr; 21(3):154-7.
- 4- Afzalpour M, Gharakhanlou R, Gaeini A, Mohebbi H, Hedayati M, Khazaei M. The effects of aerobic exercises on the serum oxidized LDL and total antioxidant capacity in non-active men. *CVD Prev Control*. 2008 Apr; 3(2):77-82.
- 5- Obrenovich ME, Li Y, Parvathaneni K, Yendluri BB, Palacios HH, Leszek J, et al. Antioxidants in health, disease and aging. *CNS Neurol Disord Drug Targets*. 2011 Mar; 10(2):192-207.
- 6- Blokhina O, Virolainen E, Fagerstedt KV. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Ann Bot*. 2003 Jan; 91(2): 179-94.
- 7- Park YK, Park E, Kim JS, Kang MH. Daily grape juice consumption reduces oxidative DNA damage and plasma free radical levels in healthy Koreans. *Mutat Res*. 2003 Aug 28; 529(1-2):77-86.
- 8- Jurenka J. Therapeutic applications of pomegranate (*Punica granatum* L.): A review. *Altern Med Rev*. 2008 Jun; 13(2):128-44.
- 9- Ross SM. Pomegranate: its role in cardiovascular health. *Holist Nurs Pract*. 2009 May-Jun; 23(3):195-7.
- 10- Sarkhoush A, Zamani Z, Fatahi R, Ghorbani H, Hadian J. A review on medicinal characteristics of pomegranate (*Punica granatum* L) *Journal of Medicinal Plants*. 2007 Jun; 6(22):13-24. (Full text in persian)
- 11- Melgarejo P, Salazar DM, Artes F. Organic acids and sugars composition of harvested pomegranate fruits. *Eur Food Res Technol*. 2000 Aug; 211(3): 185-90.
- 12- Ozkan M, Kirca A, Cemerolu B. Effects of hydrogen peroxide on the stability of ascorbic acid during storage in various fruit juices. *Food Chem*. 2004 Dec; 88(4):591-7.

- 13- Aviram M, Dornfeld L, Kaplan M, Coleman R, Gaitini D, Nitecki S, et al. Pomegranate juice flavonoids inhibit low-density lipoprotein oxidation and cardiovascular diseases: studies in atherosclerotic mice and in humans. *Drugs Exp Clin Res*. 2002; 28(2-3):49-62.
- 14-Polagruto JA, Schramm DD, Wang-Polagruto JF, Lee L, Keen CL. Effects of flavonoid-rich beverages on prostacyclin synthesis in humans and human aortic endothelial cells: association with ex vivo platelet function. *J Med Food*. 2003 Winter; 6(4):301-8.
- 15- Zarban A, Malekaneh M, Boghrati MR. Antioxidant properties of pomegranate juice and its scavenging effect on free radicals. *JBUMS*. 2007 Autumn, 14(3): 9-15. (Full text in persian)
- 16- Durrington P, Mackness B, Mackness M. The hunt for nutritional and pharmacological modulators of paraoxonase. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2002 Aug; 22(8):1248-50.
- 17- Kotdawala P, Salvi V, Krishna UR. Adolescent girl-An update. 1<sup>st</sup> ed. New Delhi: Jape Brothers, 2004: 1-7.
- 18- Brandes RP, Mugge A. Gender differences in the generation of superoxide anions in the rat aorta. *Life sci*. 1997; 60(6): 391-6.
- 19- Ide T, Tsutsui H, Ohashi N, Hayashidani S, Suematsu N, Tsuchihashi M, et al. Greater oxidative stress in healthy young men compared with premenopausal women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2002 Mar; 22(3): 438-42.
- 20- Meijer G, Westerterp KR, Saris W, ten Hoor F. Sleeping metabolic rate in relation to body composition and the menstrual cycle. *Am J Clin Nutr*. 1992 Mar; 55(3):637-40.
- 21- Sarraf-Zadegan N, Boshtam M, Malekafzali H, Bashardoost N, Sayed-Tabatabaei F, Rafiei M, et al. Secular trends in cardiovascular mortality in Iran, with special reference to Isfahan. *Acta Cardiol*. 1999 Dec; 54(6):327-33.
- 22- Kimiagar S, Ghaffarpour M, Houshiar-Rad A, Hormozdyari H, Zellipour L. Food consumption pattern in the Islamic Republic of Iran and its relation to coronary heart disease. *East mediterr health J*. 1998;4(3):539-47.
- 23-Furlong CE, Richter R, Seidel S, Motulsky A. Role of genetic polymorphism of human plasma paraoxonase/arylesterase in hydrolysis of the insecticide metabolites chlorpyrifos oxon and paraoxon. *Am J Hum Genet*. 1988 Sep; 43(3):230-8.
- 24- Brophy VH, Jampsa RL, Clendenning JB, McKinstry LA, Jarvik GP, Furlong CE. Effects of 5'regulatory-region polymorphisms on paraoxonase-gene (PON1) expression. *Am J Hum Genet*. 2001 Jun; 68(6):1428-36.
- 25- Malhotra JD, Miao H, Zhang K, Wolfson A, Pennathur S, Pipe SW, et al. Antioxidants reduce endoplasmic reticulum stress and improve protein secretion. *PNAS*, 2008 Nov; 105 (47):18525-30.
- 26- Guo S, Deng Q, Xiao J, Xie B, Sun Z. Evaluation of antioxidant activity and preventing DNA damage effect of pomegranate extracts by chemiluminescence method. *J Agric Food Chem*. 2007 Apr 18; 55(8):3134-40.
- 27- Azadzoi KM, Schulman RN, Aviram M, Siroky MB. Oxidative stress in arteriogenic erectile dysfunction: Prophylactic role of antioxidants. *J Urol*. 2005 Jul; 174(1):386-93.
- 28- Schubert SY, Lansky EP, Neeman I. Antioxidant and eicosanoid enzyme inhibition properties of pomegranate seed oil and fermented juice flavonoids. *J Ethnopharmacol*. 1999 Jul; 66(1):11-7.
- 29- Guo C, Yang J, Wei J, Li Y, Xu J, Jiang Y. Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. *Nutr Res*. 2003 Dec; 23: 1719-26.
- 30- Sumner MD, Elliott-Eller M, Weidner G, Daubenmier JJ, Chew MH, Marlin R, et al. Effects of pomegranate juice consumption on myocardial perfusion in patients with coronary heart disease. *Am J Cardiol*. 2005 Sep 15; 96(6):810-4.
- 31- Haidari M, Ali M, Ward Casscells III S, Madjid M. Pomegranate (*Punica granatum*) purified polyphenol extract inhibits influenza virus and has a synergistic effect with oseltamivir. *Phytomedicine*. 2009 Dec; 16(12):1127-36.



- 32- Ajaikumar K, Asheef M, Babu B, Padikkala J. The inhibition of gastric mucosal injury by *Punica granatum* L.(pomegranate) methanolic extract. *J Ethnopharmacol.* 2005 Jan 4; 96(1-2):171-6.
- 33- Rozenberg O, Howell A, Aviram M. Pomegranate juice sugar fraction reduces macrophage oxidative state, whereas white grape juice sugar fraction increases it. *Atherosclerosis.* 2006 Sep; 188(1):68-76.
- 34- Rosenblat M, Hayek T, Aviram M. Anti-oxidative effects of pomegranate juice (PJ) consumption by diabetic patients on serum and on macrophages. *Atherosclerosis.* 2006 Aug; 187(2):363-71.
- 35- Basu A, Penugonda K. Pomegranate juice: A heart healthy fruit juice. *Nutr Rev.* 2009 Jan; 67(1):49-56.
- 36- Fazli D, Malekirad A, Bayrami M, Shariatzadeh S and Karkhaneh A. The effect of pomegranate juice (*Punica granatum* L.) on the oxidative stress of 15-17 year old girls in Arak. *The journal of shahrekord university of Medical Sciences (JSKUMS) J Shahrekord Univ Med Sci.* 2009 suppl1, 10(4): 44-49. (Full text in persian)
- 37- Aviram M, Dornfeld L, Rosenblat M, Volkova N, Kaplan M, Coleman R, et al. Pomegranate juice consumption reduces oxidative stress, atherogenic modifications to LDL, and platelet aggregation: studies in humans and in atherosclerotic apolipoprotein E-deficient mice. *Am J Clin Nutr.* 2000 May; 71(5):1062-76.
- 38- Mertens-Talcott SU, Jilma-Stohlawetz P, Rios J, Hingorani L, Derendorf H. Absorption, metabolism, and antioxidant effects of pomegranate (*Punica granatum* L.) polyphenols after ingestion of a standardized extract in healthy human volunteers. *J Agric Food Chem.* 2006 Nov; 54(23):8956-61.
- 39- García-Alonso J, Ros G, Vidal-Guevara ML, Periago MJ. Acute intake of phenolic-rich juice improves antioxidant status in healthy subjects. *Nutr Res.* 2006 Jul; 26(7):330-9.
- 40- Bub A, Watzl B, Blockhaus M, Briviba K, Liegibel U, Müller H, et al. Fruit juice consumption modulates antioxidative status, immune status and DNA damage. *J Nutr Biochem.* 2003 Feb; 14(2):90-8.

## The Effect of Pomegranate Juice Supplementation on Oxidative Stress in Young Healthy Males

Shadmanfard A<sup>1</sup>, Nemati A<sup>2</sup>, Naghizadeh Baghi A<sup>2</sup>, Mazani M<sup>\*2</sup>

<sup>1</sup>MSc. of Biochemistry, School of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran

<sup>2</sup> Department of Basic Sciences, School of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran

\*Corresponding Author. Tel: +984515510052 Fax: +984515510057 E-mail: m.mazani@arums.ac.ir

Received: 10 March 2012 Accepted: 14 May 2012

### ABSTRACT

**Background & Objectives:** The intake of antioxidant supplementations can have key role in prevention of oxidative stress in healthy individuals. Pomegranate has antioxidant effects and may play a role in reduction of oxidative stress in healthy males. Therefore, this study examined the effect of pomegranate juice supplementation on oxidative stress in young healthy males.

**Methods:** In semi-experimental study, 14 healthy students living in Dormitories of Ardabil University of Medical Sciences were included. Subjects were given one cup of pomegranate juice supplementation per day for two weeks. Fasting blood samples were taken both at the start and the end of 2-week period to measure the antioxidant enzyme activities such as superoxide dismutase, glutathione peroxidase, paraoxonase-1, aryl esterase, and the values of serum total antioxidant capacity, glutathione, and lipid profiles. Data were analyzed using descriptive and paired t-tests.

**Results:** The level of serum total antioxidant capacity and activities of enzymes such as superoxide dismutase, glutathione peroxidase, arylesterase, and standardized arylesterase activity were significantly increased at the end of two weeks ( $p<0.05$ ). The serum level of malondialdehyde was significantly decreased after intervention ( $p<0.05$ ). Changes were not significant, although the serum levels of glutathione and HDL-cholesterol increased and LDL-cholesterol decreased at the end of two weeks period.

**Conclusion:** The results of this study showed that the pomegranate juice supplementation had beneficial effects in helping body's antioxidant defense system and reduction of oxidative stress in young healthy males. This study suggests that the pomegranate juice supplementation can be useful against oxidative stress included in dietaries of young healthy males.

**Keywords:** Pomegranate Juice; Oxidative Stress; Antioxidant Enzymes; Young Males

Shadmanfard A, Nemati A, Naghizadeh Baghi A, Mazani M. The Effect of Pomegranate Juice Supplementation on Oxidative Stress in Young Healthy Males. J Ardabil Univ Med Sci. 2013; 12 (5 Suppl.1): 77-86. (Full Text in Persian)